

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-274653

(43)Date of publication of application : 13.10.1998

(51)Int.Cl.

G01N 33/543

G01N 21/88

G06T 7/00

(21)Application number : 09-094636

(71)Applicant : SANKO JUNYAKU KK

(22)Date of filing : 28.03.1997

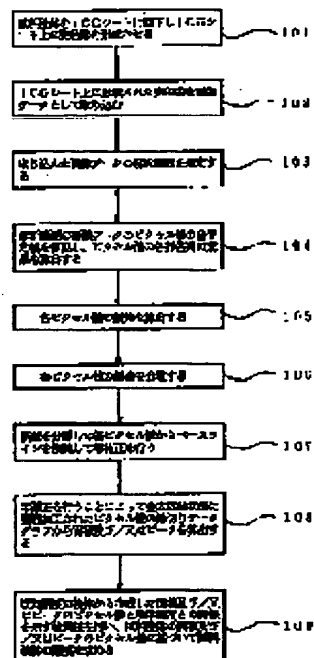
(72)Inventor : HANEDA NOBUKAZU
NAKANO KENICHI
EGAWA HIDEKI
OKAMURA HARUTO

(54) DETERMINATION METHOD FOR IMAGE PROCESSING OF SPECIMEN BY IMMUNOCHROMATOGRAPH

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To constitute an inexpensive determination system by an ICG method and to analyze data easily and rapidly by obtaining the concentration of a sample specimen based on the area, and/or the peak pixel value of the sample specimen obtained from image data that has been obtained by cutting in round slices.

SOLUTION: A sample specimen is dropped on an ICG sheet and the image data of a formed color-developing image is read by a CCD camera, etc. Then, the analysis range of the image data is specified and the entire average value of the pixel value of raw data in the analysis range, each row of each pixel value, the effect of each row, and the error of each pixel value are calculated. Then, a base line is subtracted from data excluding the error, a zero correction is performed, data are arranged so that a graph in the same shape can be obtained even by cutting in round slices at an arbitrary position. Then, an area and/or a peak pixel value are obtained from the sliced data and the concentration of the sample specimen is obtained based on the area of the sample specimen and/or the pixel value by a calibration curve being created from the specimen with a known concentration.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(51) Int.Cl.⁶
 G 0 1 N 33/543
 21/88
 G 0 6 T 7/00

識別記号
 5 2 1

F I
 G 0 1 N 33/543 5 2 1
 21/88 J
 G 0 6 F 15/62 3 9 5

審査請求 未請求 請求項の数 5 F D (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願平9-94636

(22) 出願日 平成9年(1997)3月28日

(71) 出願人 000175892

三光純薬株式会社

東京都千代田区岩本町1-10-6

(72) 発明者 羽田 信和

東京都千代田区岩本町1の10の6 三光純
 薬株式会社内

(72) 発明者 中野 健一

東京都千代田区岩本町1の10の6 三光純
 薬株式会社内

(72) 発明者 江川 秀樹

東京都千代田区岩本町1の10の6 三光純
 薬株式会社内

(74) 代理人 弁理士 石原 昭二

最終頁に続く

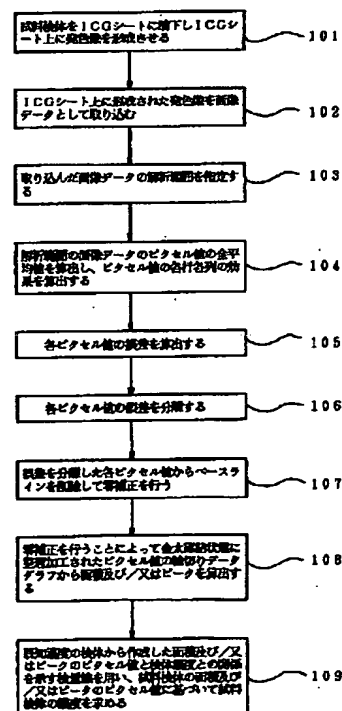
(54) 【発明の名称】 イムノクロマトグラフィによる検体の画像処理定量方

法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 定量化測定システムを改善して、コスト低減を図る。

【解決手段】 試料検体をシート上に滴下し発色像を形成させ、取得した画像データの解析範囲を指定する工程、解析範囲の生データのピクセル値の全平均値を算出し、各ピクセル値の各列及び各行の効果を算出する工程、各ピクセル値の誤差を算出する工程、各ピクセル値から各ピクセル値の誤差の分離を行なう工程、各ピクセル値の誤差を除いたデータからベースラインを差し引いて零補正を行い、任意の位置で輪切りをしても同一形状のグラフとなるようにデータの整理加工を行なう工程、並びに整理加工されたデータにつき、任意の箇所で行って輪切りデータグラフを得、この輪切りデータグラフからその面積及び／又はピークのピクセル値を求める工程を有し、既知濃度の検体から作成した面積及び／又はピークのピクセル値と検体濃度との関係を示す検量線を用い、試料検体の濃度を求める。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 (1) 試料検体をICGシート上に滴下しICGシート上に発色像を形成させる工程と、(2) 該発色像を画像データとして取り込む工程と、(3) 取り込んだ画像データの解析範囲を指定する工程と、

(4) 該解析範囲の生データのピクセル値の全平均値を算出し、各ピクセル値の各列及び各行の効果を算出する工程と、(5) 各ピクセル値の誤差を算出する工程と、

(6) 各ピクセル値から各ピクセル値の誤差の分離を行なう工程と、(7) 上記した各ピクセル値から各ピクセル値の誤差を除いたデータからベースラインを差し引いて零補正を行い、任意の位置で輪切りをしても同一形状のグラフとなるようにデータの整理加工を行なう工程と、(8) 上記したように工程(7)で整理加工されたデータにつき、任意の箇所

で輪切りにして輪切りデータグラフを得、この輪切りデータグラフからその面積及び／又はピークのピクセル値を求める工程と、(9) 既知濃度の検体から作成した面積及び／又はピークのピクセル値と検体濃度との関係を示す検量線を用い、試料検体の面積及び／又はピークのピクセル値に基づいて試料検体の濃度を求める工程とからなることを特徴とするイムノクロマトグラフィによる検体の画像処理定量方法。

【請求項2】 (1) 試料検体をICGシート上に滴下しICGシート上に発色像を形成させる工程と、(2) 該発色像を画像データとして取り込む工程と、(3) 取り込んだ画像データの解析範囲を指定する工程と、

(4) 該解析範囲の生データのピクセル値の全平均値を算出し、各ピクセル値の各列及び各行の効果を算出する工程と、(5) 各ピクセル値の誤差を算出する工程と、

(6) 各ピクセル値から各ピクセル値の誤差の分離を行なう工程と、(7) 上記した各ピクセル値から各ピクセル値の誤差を除いたデータからベースラインを差し引いて零補正を行い、任意の位置で輪切りをしても同一形状のグラフとなるようにデータの整理加工を行なう工程と、(8) 上記したように工程(7)で整理加工されたデータから、任意の

一列のデータを取り出してその中の絶対値における最大値を求めこれをピークのピクセル値とし及び／又は負又は正のデータのすべてを加算してこれを面積のピクセル値とする工程と、(9) 既知濃度の検体から作成した面積及び／又はピークのピクセル値と検体濃度との関係を示す検量線を用い、試料検体の面積及び／又はピークのピクセル値に基づいて試料検体の濃度を求める工程とからなることを特徴とするイムノクロマトグラフィによる検体の画像処理定量方法。

【請求項3】 同種及び／又は異種の複数枚のICGシート上に前記発色像を複数個形成せしめ、それらの発色像を同時に画像処理を行ない、試料検体の濃度を求めるようにしたことを特徴とする請求項1又は2記載のイムノクロマトグラフィによる検体の画像処理定量方法。

【請求項4】 前記試料検体が、便、尿、血液又は体液

であることを特徴とする請求項1～3のいずれか1項記載のイムノクロマトグラフィによる検体の画像処理定量方法。

【請求項5】 画像入力装置と、データ解析部と、出力装置とからなり、請求項1～4のいずれか1項記載の定量方法を実施するための装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、試料検体、例えば、便中のヒトヘモグロビンをイムノクロマトグラフィ法(Immuno Chromatography: ICG法と略称される)によって定量するにあたり、ICGシート上に形成される発色像を画像処理することによって行なう方法及び装置に関する。

【0002】

【関連技術】ICG法は、抗原抗体反応の高い特異性と検出感度を利用して抗原または抗体を定量する方法として知られるイムノアッセイをクロマトグラフィに応用したものである。このICG法は、検出すべき検体と特異的に反応する物質(標識物質)を固相化したニトロセルロース支持体(以下、ICGシートという)を用いる検体の濃度測定方法である。

【0003】例えば、便中ヒトヘモグロビン(以下Hbということがある)の測定をICG法で行なう場合について、図17及び図18を参照して説明する。ニトロセルロース支持体12の一端部分の標識部位16にラテックス粒子標識抗ヒトヘモグロビン抗体(以下抗Hbということがある)を固相化し、また他端部分の測定バンド20に抗Hb22を固相化してICGシート14を作成する。

【0004】このICGシート14の一端部に試料検体24を加えると該試料検体24は該ICGシート14に沿って他端方向に移行し、測定バンド20において試料検体24中のHb26と抗Hb22とラテックス粒子標識抗Hb18との測定複合体28が形成される。この測定複合体28が形成されると、該測定バンド20に形成された測定複合体28が発色するため該測定バンド20には発色像が形成されることとなる。この測定バンド20における発色の有無でヒトヘモグロビンの有無の判定を行なう。

【0005】つまり、ICGシート14の測定バンド20での発色がない場合には、陰性と判断し、発色した場合は、陽性と判断される。Hb26の量が多い程発色濃度が濃くなる。ラテックス粒子標識抗Hb18に用いられるラテックス粒子が着色されているためにその着色された色が測定複合体28の形成により集合して発色することとなる。

【0006】ラテックス粒子は所望の色に着色することができるが、通常は判定が容易なように、赤や青等の原色が用いられる。図示の例では赤色に着色したラテック

ス粒子を用いた場合について説明した。また、上記ラテックス粒子に代えて金コロイド粒子が用いられることもある。

【0007】図17及び図18において、30は上記測定バンド20の外側に設けられたコントロールバンドである。該コントロールバンド30には抗ウサギIgG32が固相化されている。この場合、ニトロセルロース支持体12の標識部位16には、前記したラテックス粒子標識抗Hb18とともにラテックス粒子標識ウサギIgG34が固相化される。

【0008】このように構成したICGシート14の一端部に試料検体24を加えると、該ラテックス粒子標識ウサギIgG34が該ICGシート14に沿って他端方向に移行し、コントロールバンド30において抗ウサギIgG32とラテックス粒子標識ウサギIgG34とのコントロール複合体36が形成され、前記した測定複合体28とは異なる発色（図示の例では青色）を行なう。

【0009】このコントロール複合体36の発色により、試料検体24が間違いなくICGシート14上に添加されたかを確認することができる。したがって、陰性、陽性の判定パターンは次の3種類となる。①陰性：赤色無、青色有。②陽性：赤色有、青色有。③判定不能：赤色無、青色無。従来はこの判定を目視によって行なっていたがヒトヘモグロビン量の正確な値を判断することは不可能であった。

【0010】一方、ニトロセルロースのような薄い膜、濾紙及びメンブラン等で分画された蛋白等の濃淡を測定する比色定量法として、デンシトメトリーが知られている。このデンシトメトリーは、ヒト血清全体の蛋白分画のパターンを測定する研究的要素の高い方法であるが、近年この原理を応用して臨床試薬の測定に用いられている。

【0011】そこで、本発明者は、上記したICG法における目視判定の不正確を解消すべくこの判定に対してデンシトメーターを利用したデンシトメトリーが適用できないかについて検討した。

【0012】しかし、本発明者の検討によれば、デンシトメトリーは、次のような欠点を有しているため、上記した判定に用いるには不適當であった。①デンシトメーターは汎用機であるため、ベースラインの設定や各種計測条件の設定をユーザーが設定しなければならない。②測定感度が良好でない。計測バンドをそのまま輪切りにした計測方法のため、ICG法に付随する計測誤差（試薬・検体の拡散速度の不均一、シートのバラツキ等による）を同時に計測データとしてしまう。③測定可能な濃度範囲が狭く限定されてしまう。④測定値を算出するまでに時間がかかるので多数検体処理が難しい。測定時間は、1検体あたり3～5分が必要である。⑤CCDカメラ、ビデオカメラを使用するので小型軽量化するのが難しくコストが高くなってしまう。

【0013】

【発明が解決しようとする課題】本発明者は、上記したICG法の判定方法についてさらに改良を行なうべくデンシトメトリー以外の方法についての検討を続けた結果、本発明に到達したものである。本発明は、ICG法における定量化測定システムの構築を可能とし、しかも画像入力装置、表計算ソフト、コンピュータ等の市販品の若干の改造で、上記定量化測定システムは利用できるように、コスト低減を図ることができ、抗原-抗体反応や酵素-基質反応における反応の極大値及び収束についてのデータ解析が容易となり、従来から画像解析により行なっていた凝集像の自動判定についても応用可能で、この分野においても廉価なシステム構成を可能としたICG法による検体の画像処理定量方法及び装置を提供することを目的とする。

【0014】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、本発明のイムノクロマトグラフィによる検体の画像処理定量方法は、（1）試料検体をICGシートに滴下しICGシート上に発色像を形成させる工程と、（2）該発色像を画像データとして取り込む工程と、（3）取り込んだ画像データの解析範囲を指定する工程と、

（4）該解析範囲の生データのピクセル値の全平均値を算出し、各ピクセル値の各列及び各行の効果を算出する工程と、（5）各ピクセル値の誤差を算出する工程と、

（6）各ピクセル値から各ピクセル値の誤差の分離を行なう工程と、（7）上記した各ピクセル値から各ピクセル値の誤差を除いたデータからベースラインを差し引いて零補正を行い、任意の位置で輪切りをしても同一形状のグラフとなるようにデータの整理加工を行なう工程と、（8）上記したように工程（7）で整理加工されたデータにつき、任意の箇所を輪切りにして輪切りデータグラフを得、この輪切りデータグラフからその面積及び／又はピークのピクセル値を求める工程と、（9）既知濃度の検体から作成した面積及び／又はピークのピクセル値と検体濃度との関係を示す検量線を用い、試料検体の面積及び／又はピークのピクセル値に基づいて試料検体の濃度を求める工程とからなることを特徴とする。

【0015】検体をICGシート上に滴下しICGシート上に発色像を形成させる工程（1）は、従来のICG法と同様に行なえばよい。

【0016】該発色像を画像データとして取り込む工程（2）は、イメージスキャナー、CCDカメラや保存されているデータファイルを用いて行なわれる。

【0017】取り込んだ画像データの解析範囲を指定する工程（3）は、画像データの解析範囲を数値またはマウスで指定することによって行なう。また、取り込む画像の行列間隔が均一なら自動指定を使用することもできる。

【0018】該解析範囲の生データのピクセル値の全平

均値を算出し、各ピクセル値の各列及び各行の効果を算出する工程（４）においては、R（赤）、G（緑）、B（青）各色又は指定色についてのピクセル値について算出し、これにより測定バンドの方眼スライスデータが得られる。

【００１９】各ピクセル値の誤差を算出する工程（５）においては、各ピクセル値の生データから誤差を算出する。例えば、１行１列のピクセル値の誤差は次の式によって求められる。１行１列のピクセル値の誤差＝（１行１列の生のピクセル値）－（１行１列のピクセル値の行の効果）－（１行１列のピクセル値の列の効果）－（全ピクセル値の平均値）

【００２０】各ピクセル値から各ピクセル値の誤差の分離を行なう工程（６）においては、各ピクセル値の生データから誤差を分離する。すなわち、（１行１列の誤差を除いたピクセル値）＝（１行１列の生のピクセル値）－（１行１列のピクセル値の誤差）によって、誤差の分離を行なう。

【００２１】各ピクセル値から各ピクセル値の誤差を除いたデータからベースラインを差し引いて零補正を行うことにより、任意の位置で輪切りをしても同一形状のグラフ、即ち、金太郎飴状態のグラフとなるようにデータの整理加工が行なわれる〔工程（７）〕。

【００２２】工程（７）で整理加工されたデータにつき、任意の箇所を輪切りにして輪切りデータグラフを得、この輪切りデータグラフからその面積及び／又はピークのピクセル値を求めることができる〔工程（８）〕。

【００２３】既知濃度の検体から作成した面積及び／又はピークのピクセル値と検体濃度との関係を示す検量線を別途作成する。この検量線を用いて、試料検体の面積及び／又はピークのピクセル値に基づいて試料検体の濃度を求めることができる〔工程（９）〕。

【００２４】ピクセル値を示すデータグラフの面積（ピクセル値の総和）の値から試料検体の濃度を求めるのが最適である。データグラフのピーク（ピクセル値の最大高さ）の値から試料検体の濃度を求めることも可能であるが、ピークの位置から試料検体の発色の態様を知ることができるので、面積のデータとは別の情報を得ることができる。面積＋ピークの値から検体濃度を求めることもできるが、それだけ演算の手間がかかるので、通常は面積から検体濃度を求めれば充分である。

【００２５】上記した本発明の態様では、工程（７）で整理加工されたデータからデータグラフを得る工程

（８）が採用されるが、必ずしもデータグラフを作成する必要はなく、整理加工されたデータから面積及び／又はピークのピクセル値をデータグラフを作成することなく直接求めることも可能である。

【００２６】本発明の画像処理定量方法は、単一のＩＣＧシート上に単一の発色像を形成させ、この単一の発色

像を画像処理することもできるが、同種及び／又は異種の複数枚のＩＣＧシート上に前記発色像を複数個形成せしめ、それらの発色像を同時に画像処理を行なうことができるので、異なる複数個の試料検体を同時に測定することができるし、また同一の試料検体を同時に測定することもできる。そのため極めて効率的な画像処理定量方法を実現することができる。

【００２７】前記試料検体としては、便、尿、血液又は体液等を用いることができる。本発明装置は、画像入力装置と、データ解析部と、出力装置とからなり、上述したＩＣＧ法による検体の画像処理定量方法を実施するものである。

【００２８】

【発明の実施の形態】以下に本発明の実施の形態を添付図面に基づいて説明する。図１は本発明方法の手順を示すフローチャート及び図２は本発明方法を実施するための装置の基本的な機器の設置例を示すブロック図である。

【００２９】本発明方法を実施するための装置は、図２に示すごとく、画像入力装置５０、例えばイメージスキャナーやＣＣＤカメラ／ビデオカメラと、パーソナルコンピュータから構成されるデータ解析部５２と、プリンター５４やディスプレイ５６から構成される出力装置を有している。なお、画像データとしては、画像入力装置５０によって予め入力された画像データを収容するハードディスクやその他のメディアを利用することもできる。

【００３０】本発明方法は、前述したごとく、工程（１）～工程（９）によって構成される。図１において、符号１０１は、本発明方法の工程（１）を示す。該工程（１）においては、前述した従来のＩＣＧ法と同様に、検体をＩＣＧシート１４上に滴下し、ＩＣＧシート１４上に測定複合体２８の発色像を形成せしめる（図３）。本例においては、発色像は赤色の場合について説明する。

【００３１】符号１０２は、本発明方法の工程（２）を示す。該工程（２）においては、該ＩＣＧシート１４上に形成された発色像を画像入力装置５０、例えばイメージスキャナーを用いて画像データとして取り込む（図４）。この画像データは、各ピクセル値の生データとして表示される。

【００３２】符号１０３は、本発明方法の工程（３）を示す。該工程（３）においては、取り込んだ画像データの解析範囲を指定する。本例においては、３０行及び１００列の範囲でピクセル値を指定した（各行各列のピクセル値を示す後記する表１～８においては、繁雑を避けるため中間のピクセル値データの記載を省略してある）。

【００３３】本例においては、着色像は赤色であり赤色の変動が少ないため、R、G、Bの内、Rについてのピ

クセル値の抽出は行なわず、G（緑）とB（青）についての抽出を行ない、そのピクセル値を表1（緑成分）及び表2（青成分）に示した。そして、緑成分と青成分の積を算出して表3に示した。この表3のピクセル値の分布を立体的に示したグラフが図5であり、列を横軸として平面的に示したグラフが図6である。

【0034】

【表1】

緑成分の抽出					
	1	2	98	99	100
1	255	255	229	225	221
2	255	255	225	222	222
26	255	255	222	212	209
27	254	255	221	214	212
28	255	255	221	218	213
29	255	255	221	217	216
30	255	255	223	219	218

【0035】

【表2】

青成分の抽出					
	1	2	98	99	100
1	254	253	239	238	236
2	254	253	238	236	236
26	252	253	238	234	231
27	253	253	240	237	232
28	250	253	237	236	233
29	251	252	239	237	233
30	251	251	238	237	234

【0036】

【表3】

緑・青の積					
	1	2	98	99	100
1	64770	64515	54731	53550	52156
2	64770	64515	53550	52392	52392
26	64260	64515	52836	49608	48279
27	64262	64515	53040	50718	49184
28	63750	64515	52377	51448	49629
29	64005	64260	52819	51429	50328
30	64005	64005	53074	51903	51012

【0037】符号104は、本発明方法の工程（4）を示す。該工程（4）においては、解析範囲の画像データのピクセル値の全平均を算出し、ピクセル値の各行各列の効果の算出を行なう（表4）。

【0038】

【表4】

列と行の効果の算出						平均値	
	1	2	98	99	100	平均値	全平均値
1	64770	64515	54731	53550	52156	62665.98	8566.399
2	64770	64515	53550	52392	52392	62555.42	8455.89
26	64260	64515	52836	49608	48279	63140.82	9041.29
27	64262	64515	53040	50718	49184	63170.95	9071.417
28	63750	64515	52377	51448	49629	63184.49	9084.962
29	64005	64260	52819	51429	50328	63236.36	9136.835
30	64005	64005	53074	51903	51012	63329.55	9230.017
平均値						全平均値	
60481.8 60834.37						54099.53	
平均値-全平均値							
6382.272 6734.838						-14314.8 -15709.6 -16644.2	

【0039】符号105は、本発明方法の工程（5）を示す。該工程（5）においては、各ピクセル値の誤差の算出が次の式により行なわれる。（1行1列のピクセル値の誤差）＝（1行1列の生のピクセル値）－（1行1列のピクセル値の行の効果）－（1行1列のピクセル値の列の効果）－（全ピクセル値の平均値）。表5は算出した誤差を示し、図7は誤差の分布を立体的に示すグラフであり、図8は列を横軸として平面的に示したグラフである。

【0040】

【表5】

各ピクセルの誤差の算出

	1	2	98	99	100
1	-4278.2	-4885.77	6379.868	6593.701	6134.301
2	-4167.69	-4775.26	5309.377	5546.21	6480.81
26	-5263.09	-5360.66	4009.977	2176.81	1782.41
27	-5291.22	-5390.78	4138.85	3256.683	2657.283
28	-5816.76	-5404.33	3507.304	3973.138	3088.738
29	-5613.64	-5711.2	3897.432	3902.265	3735.865
30	-5706.82	-6059.38	4059.25	4283.083	4326.683

【0041】符号106は、本発明方法の工程（6）を示す。該工程（6）においては、各ピクセル値の誤差の

分離を次の式により行ない正しいピクセル値を算出する。
 $(1 \text{ 行 } 1 \text{ 列の正しいピクセル値}) = (1 \text{ 行 } 1 \text{ 列の生のピクセル値}) - (1 \text{ 行 } 1 \text{ 列のピクセル値の誤差})$ 。
 表6は各ピクセル値から誤差を分離したピクセル値を示している。図9は、各ピクセル値から誤差を取り除いたピクセル値の分布を立体的に示すグラフであり、図10は列を横軸として平面的に示したグラフである。

【0042】

【表6】

各ピクセルの誤差の分離

	1	2	98	99	100
1	69048.2	69400.77	48351.13	46956.3	46021.7
2	68937.69	69290.26	48240.62	46845.79	45911.19
26	69523.09	69875.66	48826.02	47431.19	46496.59
27	69553.22	69905.78	48856.15	47461.32	46526.72
28	69566.76	69919.33	48869.7	47474.86	46540.26
29	69618.64	69971.2	48921.57	47526.74	46592.14
30	69711.82	70064.38	49014.75	47619.92	46685.32

ベースラインの算出(28、29、30の3つの行の平均をベースラインとした)

	1	2	98	99	100
28	69566.76	69919.33	48869.7	47474.86	46540.26
29	69618.64	69971.2	48921.57	47526.74	46592.14
30	69711.82	70064.38	49014.75	47619.92	46685.32
	69632.4	69984.97	48935.34	47540.5	46605.9

【0045】

【表8】

	1	2	98	99	100
1	-584.206	-584.206	-584.206	-584.206	-584.206
2	-694.715	-694.715	-694.715	-694.715	-694.715
26	-109.315	-109.315	-109.315	-109.315	-109.315
27	-79.1879	-79.1879	-79.1879	-79.1879	-79.1879

【0046】符号108は、本発明方法の工程(8)を示す。該工程(8)においては、工程(7)で整理加工されたデータにつき、任意の箇所で行切りにして輪切りデータグラフ(図13)を得、この輪切りデータグラフからその面積及び／又はピークのピクセル値を求める。この場合、整理加工されたデータから面積及び／又はピークのピクセル値をデータグラフを作成することなく直接求めることも勿論可能である。

【0047】符号109は、本発明方法の工程(9)を示す。該工程(9)においては、既知濃度の検体から作成した面積及び／又はピークのピクセル値と検体濃度との関係を示す検量線を用い、試料検体の面積及び／又はピークのピクセル値に基づいて試料検体中の検体濃度を求める。

【0048】検量線は未知濃度の検体と同種の既知濃度の検体につき、別途作成される。例えば、表9のような検体(ヘモグロビン)の既知濃度とピクセル値(面積)との関係が、算出された場合には、標準ヘモグロビンの

【0043】符号107は、本発明方法の工程(7)を示す。該工程(7)においては、誤差を分離した各ピクセル値からベースラインを削除して零補正を行う。表7はベースラインの値を示し、表8は零補正した各ピクセル値を示している。図11は誤差を分離した各ピクセル値からベースラインを削除したピクセル値の分布を示すグラフであり、図12は列を横軸として平面的に示したグラフである。この状態では図11及び図12のグラフを任意の位置で輪切りにしても図13に示すような同一形状の輪切りデータグラフとなる。即ち、金太郎飴状態となるようにデータの整理加工が行なわれる。

【0044】

【表7】

検量線は図14で示される。

【0049】

【表9】

面積 ピクセル値	ヘモグロビン濃度 (ng/ml)
2	0
200	5
552	10
1580	25
2943	50
4469	100
9001	250
16056	500
21022	1000

【0050】この場合の検量線式は

【0051】

$$【式1】 y = 0.000002x^2 + 0.0044x + 13.856$$

【0052】で表わされる。上式において、y：計算値濃度(ng/ml)、x：ピクセル値である。

【0053】例えば、未知濃度の検体(ヘモグロビン)のピクセル値(面積)が2000と測定された場合には、ヘモグロビン濃度は32ng/mlであることが判明する。また、未知濃度の検体のピクセル値が10,000であれば、ヘモグロビン濃度は約300ng/mlであることがわかる。

【0054】図13のデータグラフからは、ピクセル値の面積(ピクセル値の総和を示す)とピーク(ピクセル

値の最大高さを示す)を知ることができる。このピクセル値の面積とピークとはいずれも検体濃度と関連性を有するので、いずれのデータ又は双方のデータから検体濃度を求めることが可能である。ピークのデータからは濃度以外にもピークの位置から検体試料の発色の態様を知ることができるので、面積のデータとは別の情報(反応の速度、即ち反応が極大に達する時を表示している)を得ることができる。面積は発色像の全体の発色状態をトータルで示すものであるから濃度を最もよく示すものである。面積+ピークの値から検体濃度を求めることもできるが、それだけ演算の時間がかかるので、通常は面積から検体濃度を求めれば充分である。

【0055】

【実施例】以下に本発明方法の実施例を挙げてさらに具体的に説明する。

【0056】実施例1

(1) 試料検体: 12人[健常人6人(検体No. 1~6)と大腸癌患者6人(検体No. A1~A6)]の糞便2mgを採便容器で採取したもの。

【0057】(2) 使用機器: ①画像入力装置としては、イメージスキャナー(EPSON9000)を用いた。②データ解析部としては、パーソナルコンピュータ(FMV-5150DPS)を用いた。③出力装置としては、プリンター(EPSON810C)及び上記パーソナルコンピュータに備えられたディスプレイを用いた。

【0058】(3) 検量線の作成: 標準ヒトヘモグロビン(シグマ社製)の濃度がそれぞれ0、5、10、25、50、100、250、500、1000ng/mlのもの100μlをそれぞれICGシート[わかもと製薬(株)製]に滴下し、10分間放置後、前記した画像処理装置を用いてICGシート上の発色像について、前述した手法に従って、発色像のピクセル値の総和(面積)及びピクセル値の最大高さ(ピーク)を示すグラフを作成し、その面積を計測した。この計測を5回繰り返しその結果を表9に示した。表9に示した標準ヒトヘモグロビン濃度とピクセル値の総和(面積)の平均値との関係を検量線として図14に示した。この検量線式は、

【0059】

【式2】 $y = 0.000002x^2 + 0.0044x + 13.856$

【0060】である。

【0061】(4) 実験手順: 採便容器に便抽出液を1ml加え、15分間振とうして、その100μlをICGシート[わかもと製薬(株)製]に滴下した。10分間放置後、前記した画像処理装置を用いてICGシート上の発色像について、前述した手法に従って発色像のピクセル値の総和(面積)及びピクセル値の最大高さ(ピーク)を示すグラフを作成し、その面積を計測し、その結果を表10に示した。前記した検量線を用いてこの面

積(ピクセル値の総和)のデータから未知検体の便中ヒトヘモグロビン濃度を換算した。この結果を面積の測定値とともに表10に示した。

【0062】

【表10】

	試料 No.	ヘモグロビン濃度 (ng/ml)	ピクセル値 (面積)
健常人	1	18	752
	2	23	1274
	3	24	1399
	4	21	1083
	5	19	819
	6	22	1147
大腸ガン 患者	A-1	850	19381
	A-2	977	20877
	A-3	956	20630
	A-4	125	6425
	A-5	990	21014
	A-6	514	14747

【0063】これらの結果から明らかなように、本発明方法によれば、未知検体の便中ヒトヘモグロビン濃度を極めて正確に表示することが可能である。一方、目視判定の場合には、検体A1~A6は単に陽性と判定され、検体1~6については単に陰性と判定された。

【0064】上記した実施例においては、単一の発色像を画像処理する場合について説明したが、図15に示すように複数の検体A~Gについての同時測定を行なうことができるし、図16に示すように同一の検体Aについて複数の検査項目イ〜トについて同時測定を行なうこともできる。

【0065】また、上記実施例では、便中ヒトヘモグロビン濃度についての測定を行なった例を示したが、その他の検体、例えば、尿、血液(血清、血漿)、体液(脳液、髄液、腹水等)についての測定を行なうことができる。

【0066】例えば、血液についていえば、感染症につき、HBs抗原、HBs抗体、HBe抗原、HBe抗体、HIV抗体、HCV抗体や、腫瘍マーカー、例えば、CEA(ガン胎児性抗原)、AFP(α-フェトブロテイン)等や、各種のアレルゲン由来抗体、例えば、スギ花粉、ハウスダスト等由来の特異IgE抗体の濃度測定が可能である。

【0067】このように一つの検体について複数の検査項目が存在する場合には、本発明方法によれば、上述したように同時測定が可能であるので、非常に効率的な測定を行なうことができる。

【0068】

【発明の効果】以上述べたように、本発明によれば、ICG法における定量化測定システムの構築を可能とし、しかも画像入力装置、表計算ソフト、コンピュータ等の市販品の若干の改造で、上記定量化測定システムは利用できるように、コスト低減を図ることができ、抗原-抗体反応や酵素-基質反応における反応の極大値及び収束に

ついでデータ解析が容易となり、従来から画像解析により行なっていた凝集像の自動判定についても応用可能で、この分野においても廉価なシステム構成が可能となるという大きな効果が達成できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明方法の手順を示すフローチャートである。

【図2】本発明方法を実施するための装置における各部材の配列を示すブロック図である。

【図3】ICGシート上における測定複合体及びコントロール複体の発色状態を示す説明図である。

【図4】ICGシート状に形成された発色像を画像入力装置によって取り込まれた画像データを示す図面である。

【図5】緑成分と青成分の積のピクセル値の分布を立体的に示すグラフである。

【図6】緑成分と青成分の積のピクセル値の分布を列を横軸として平面的に示すグラフである。

【図7】ピクセル値の誤差の分布を立体的に示すグラフである。

【図8】ピクセル値の誤差の分布を列を横軸として平面的に示すグラフである。

【図9】ピクセル値から誤差を取り除いたピクセル値の分布を立体的に示すグラフである。

【図10】ピクセル値から誤差を取り除いたピクセル値の分布を列を横軸として平面的に示すグラフである。

【図11】誤差を分離したピクセル値からベースラインを削除したピクセル値の分布を示すグラフである。

【図12】誤差を分離したピクセル値からベースラインを削除したピクセル値の分布を列を横軸として平面的に示すグラフである。

【図13】図11又は図12のグラフを任意の箇所を輪切りにした状態を示すグラフである。

【図14】標準ヘモグロビン検量線を示すグラフである。

【図15】複数の試料検体に対して一つの検査項目を複数枚のICGシートを用いて同時に測定する場合の態様例を示す図面である。

【図16】同一の試料検体に対して複数の検査項目を複数枚のICGシートを用いて同時に測定する場合の態様例を示す図面である。

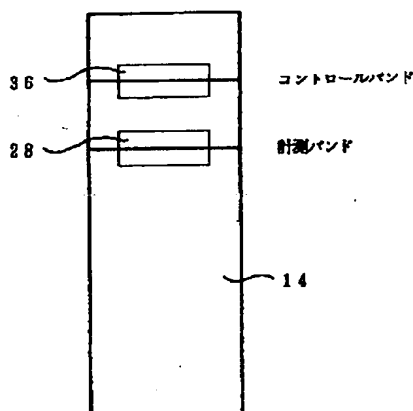
【図17】ICG法の原理を示す説明図である。

【図18】ICGシートを示す上面説明図である。

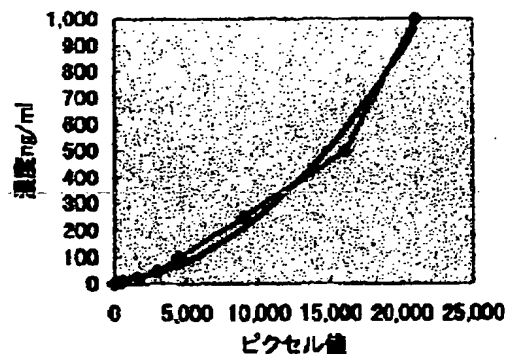
【符号の説明】

- 12 ニトロセルロース支持体
- 14 ICGシート
- 16 標識部位
- 18 ラテックス粒子標識抗Hb
- 20 測定バンド
- 22 抗Hb
- 24 検体
- 26 ヒトヘモグロビン (Hb)
- 28 測定複合体
- 30 コントロールバンド
- 32 抗ウサギIgG
- 34 ラテックス粒子標識ウサギIgG
- 36 コントロール複合体
- 50 画像入力装置
- 52 データ解析部
- 54 プリンター
- 56 ディスプレイ

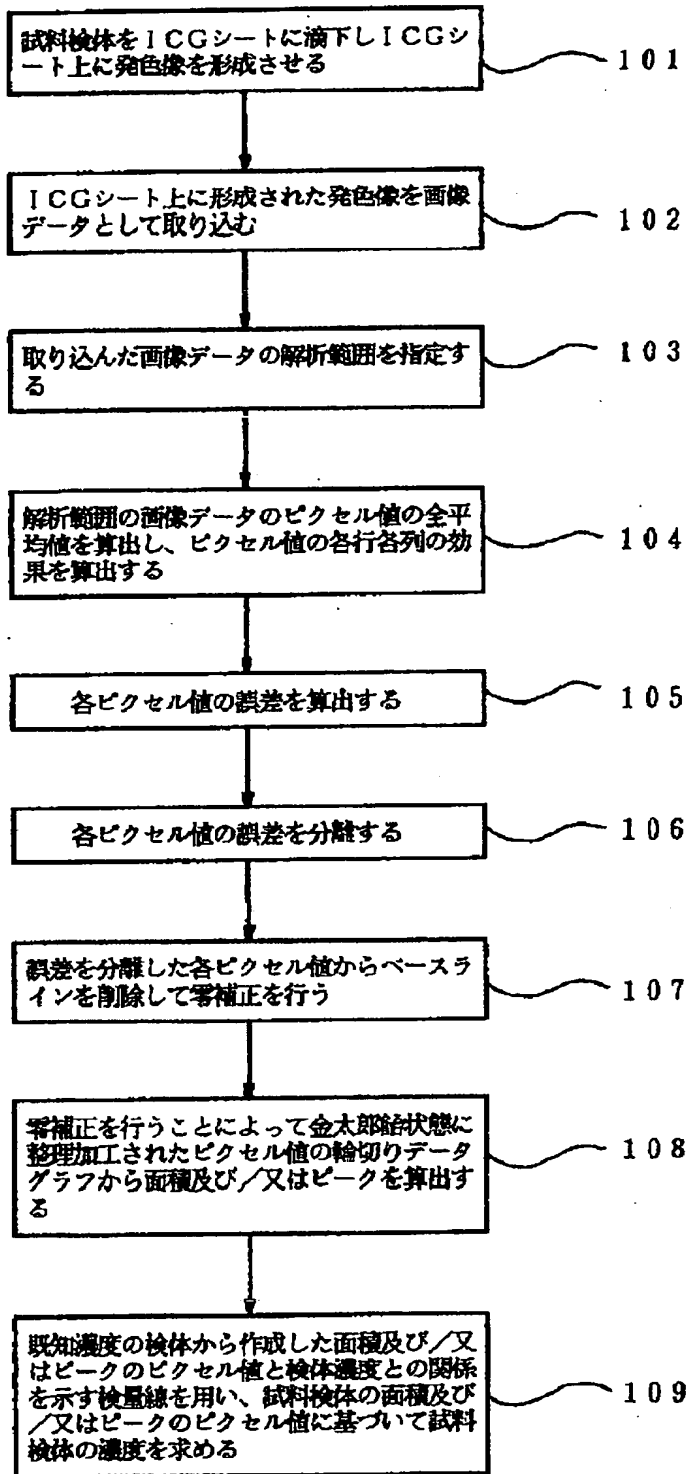
【図3】



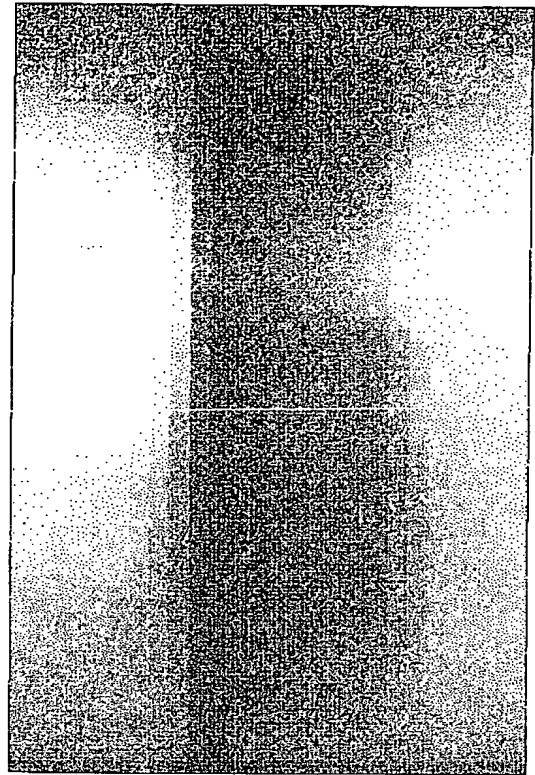
【図14】



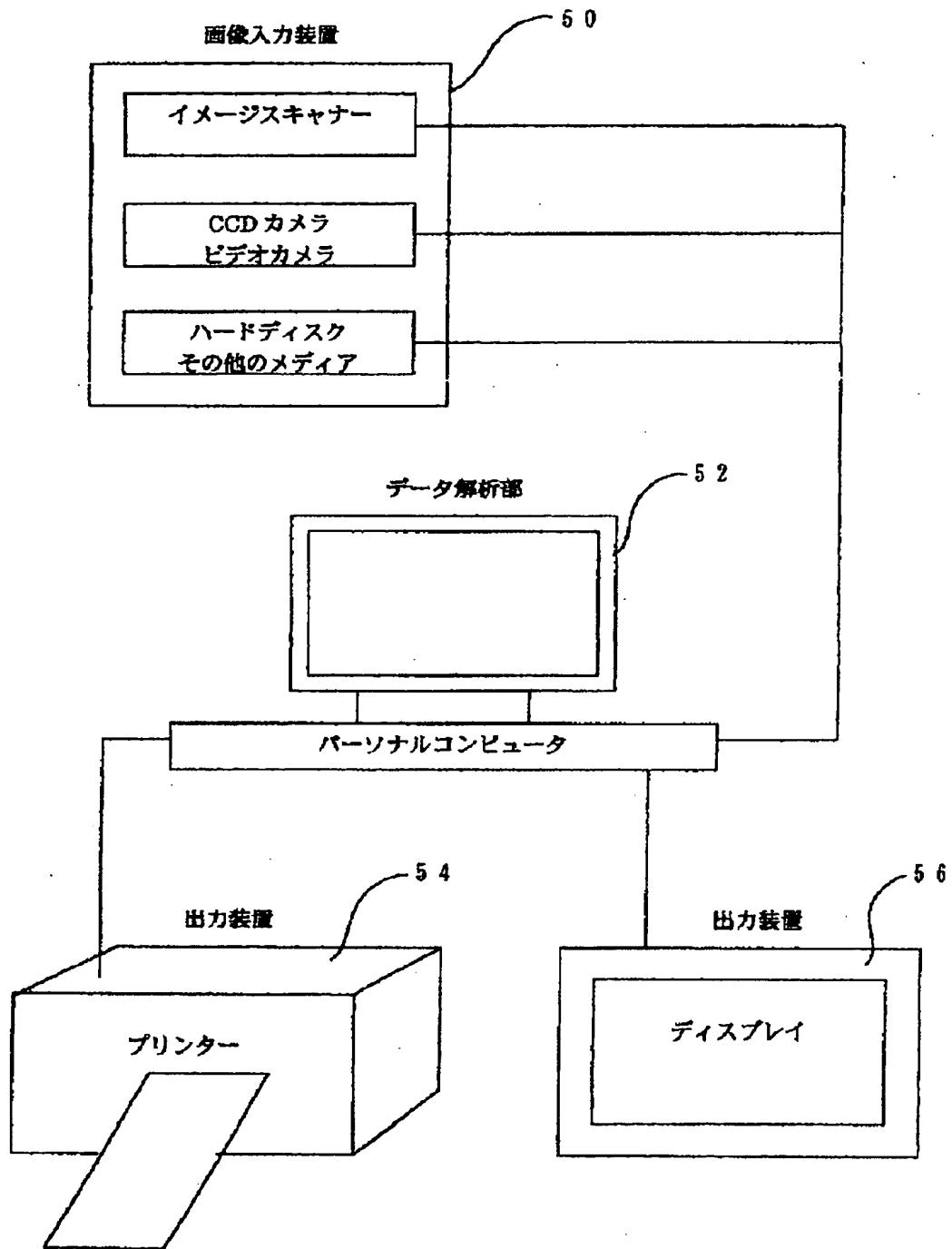
【図1】



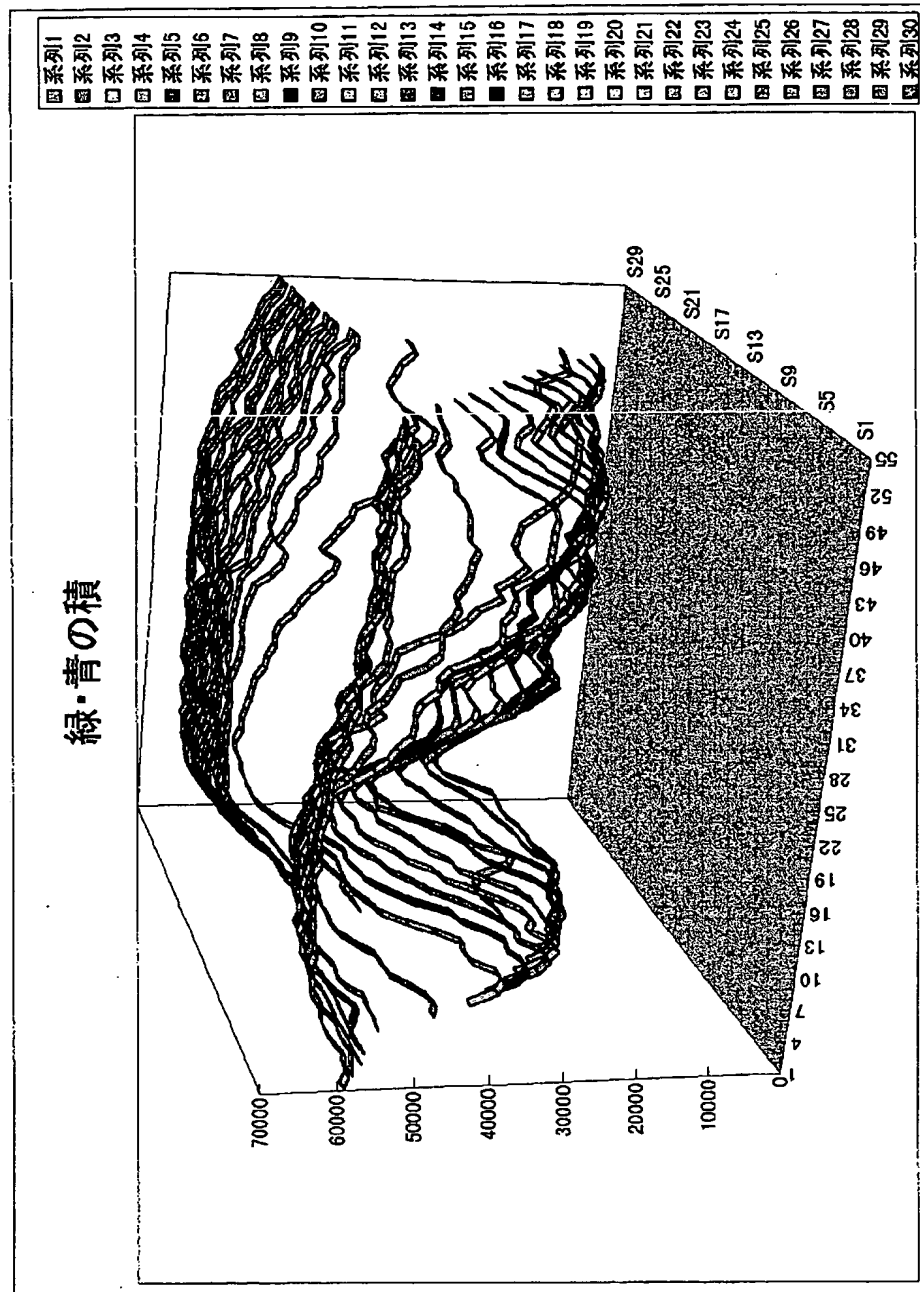
【図4】



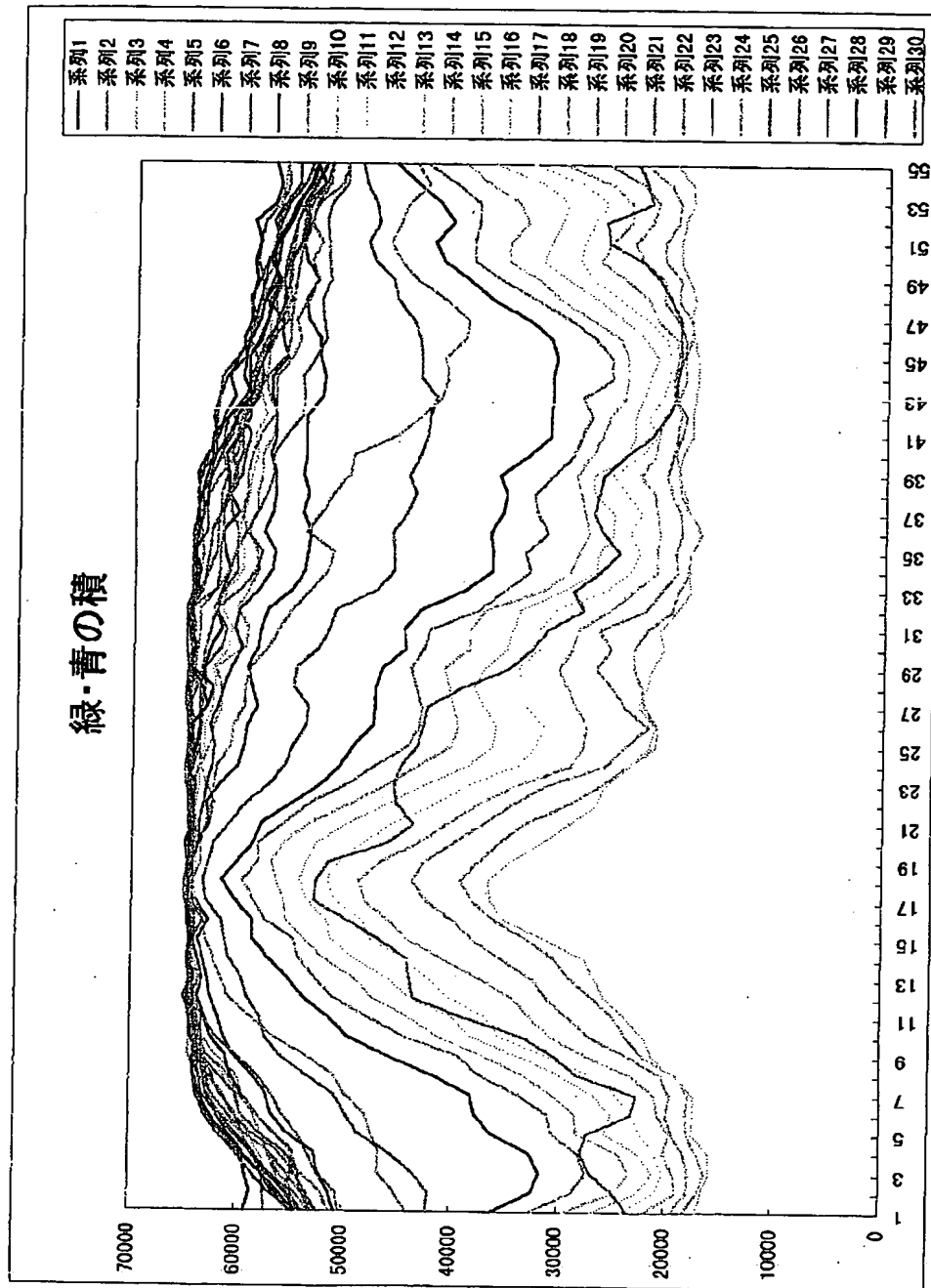
【図2】



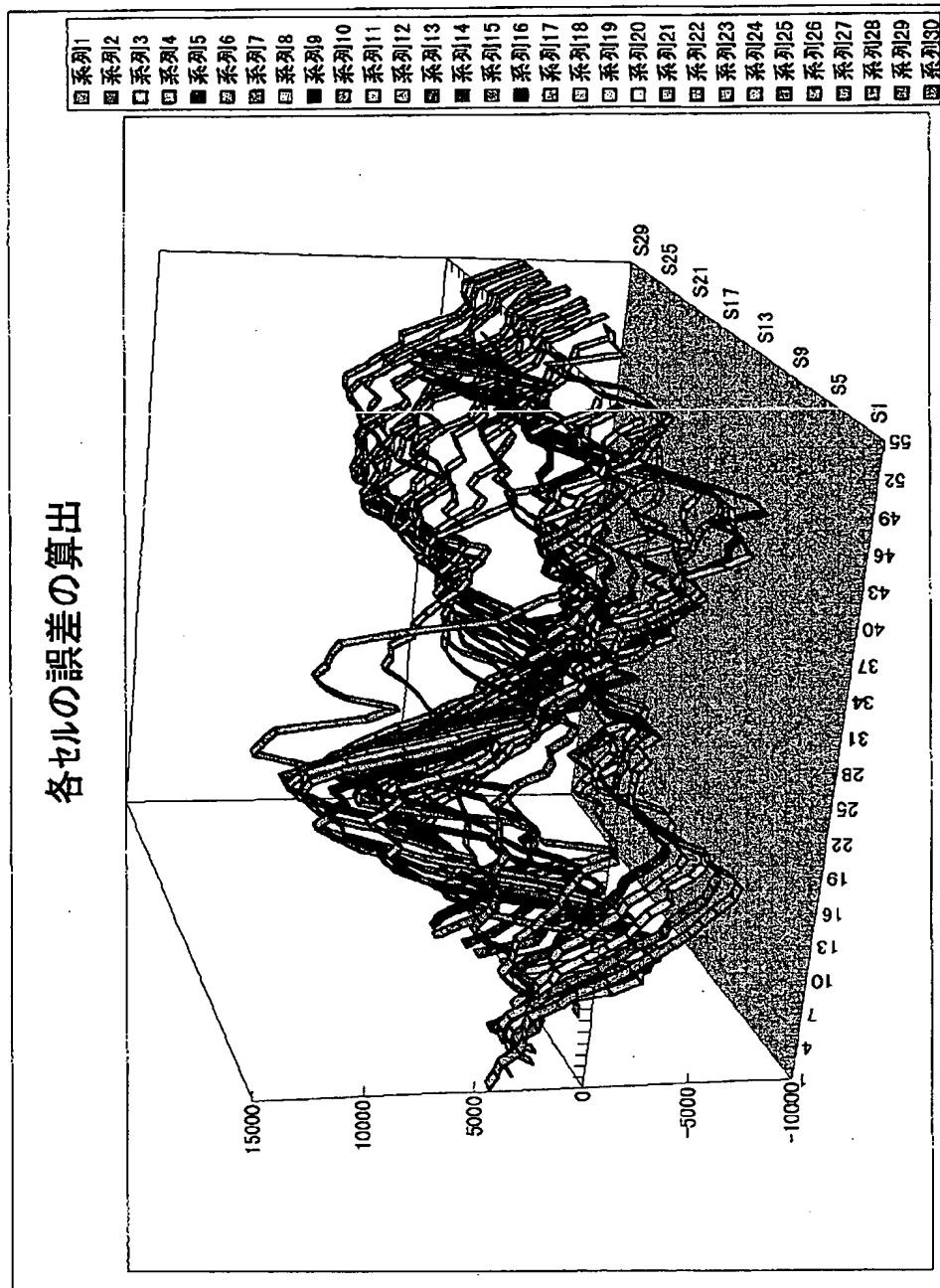
【図5】



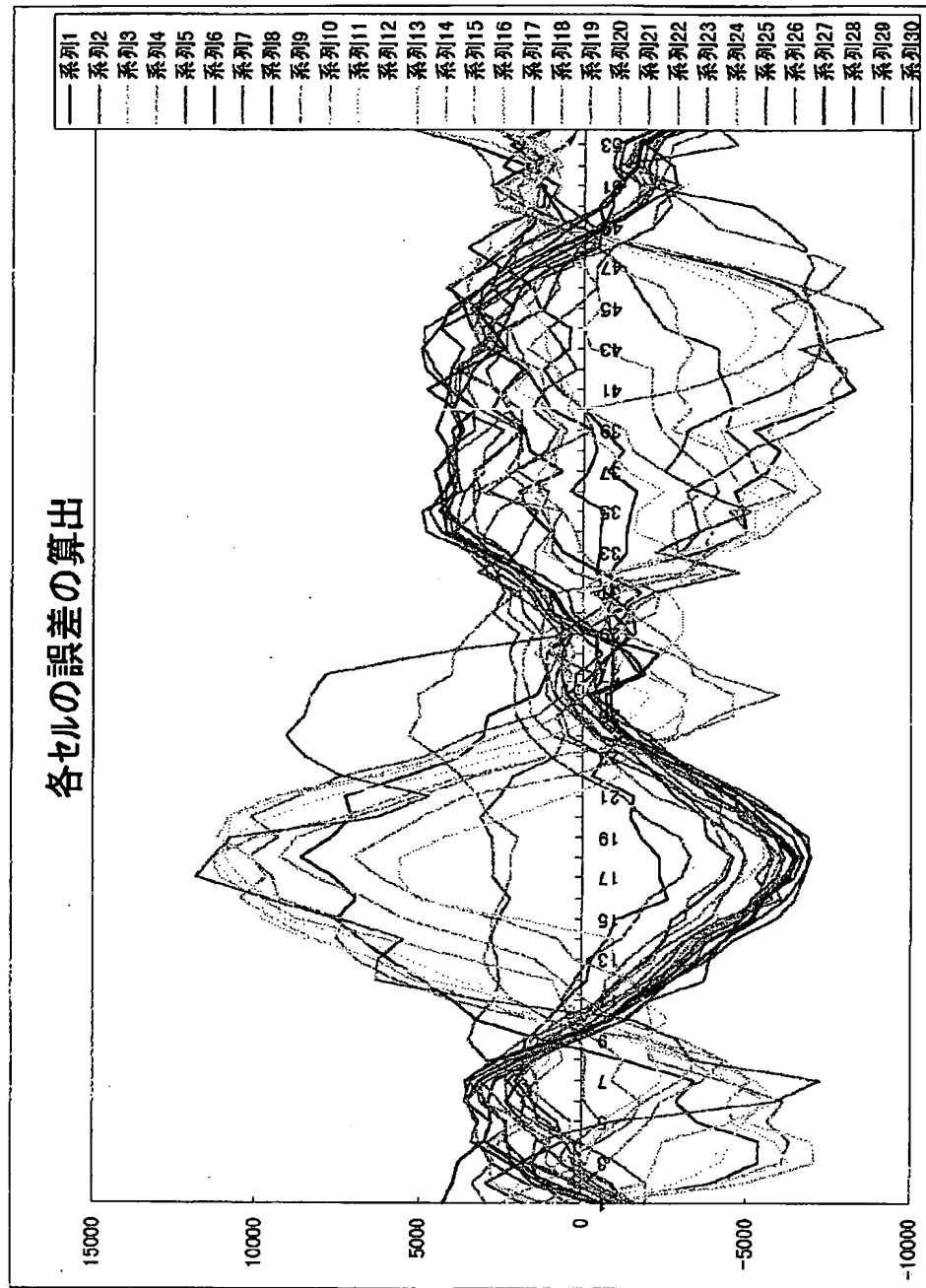
【図6】



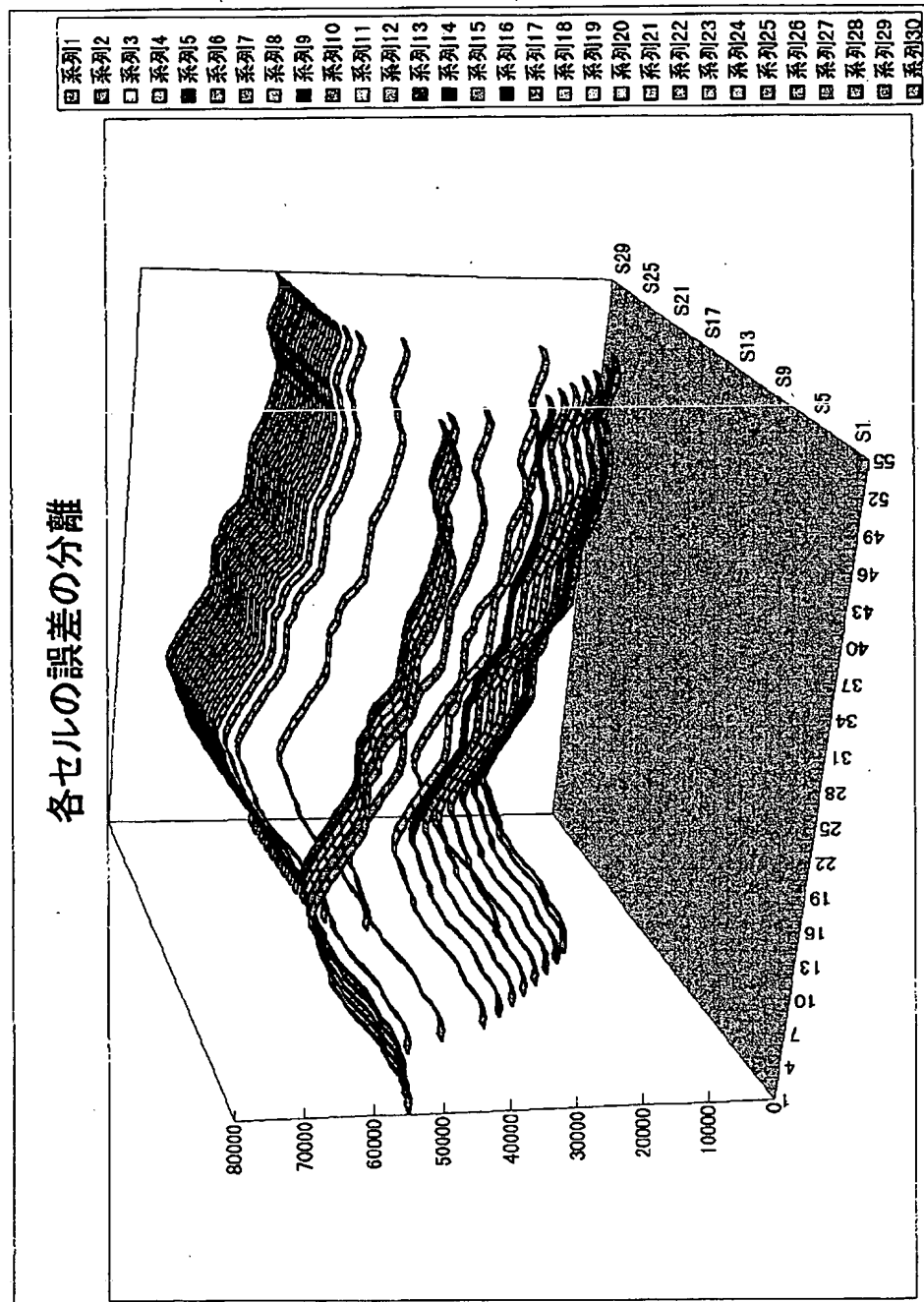
【図7】



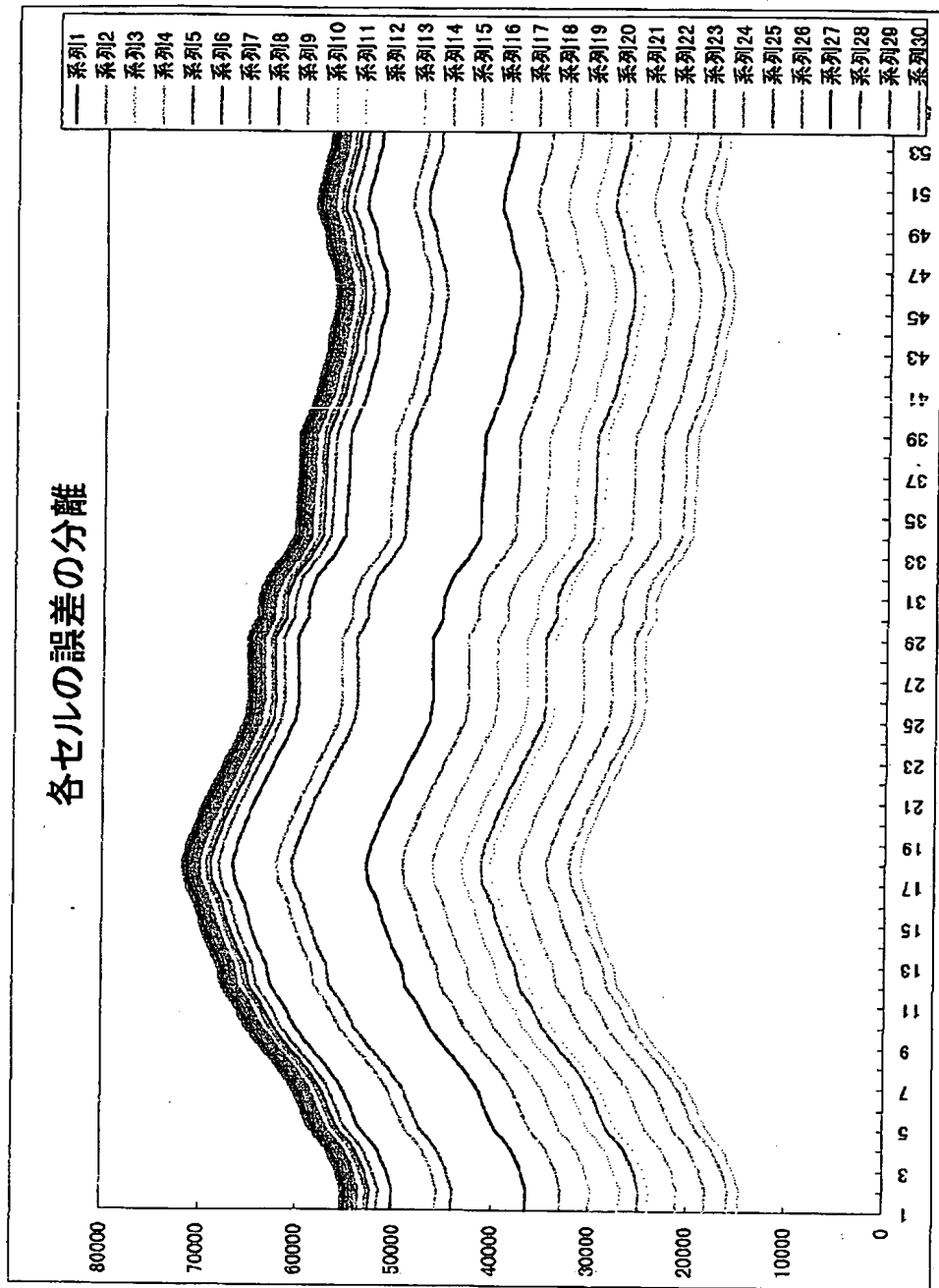
【図8】



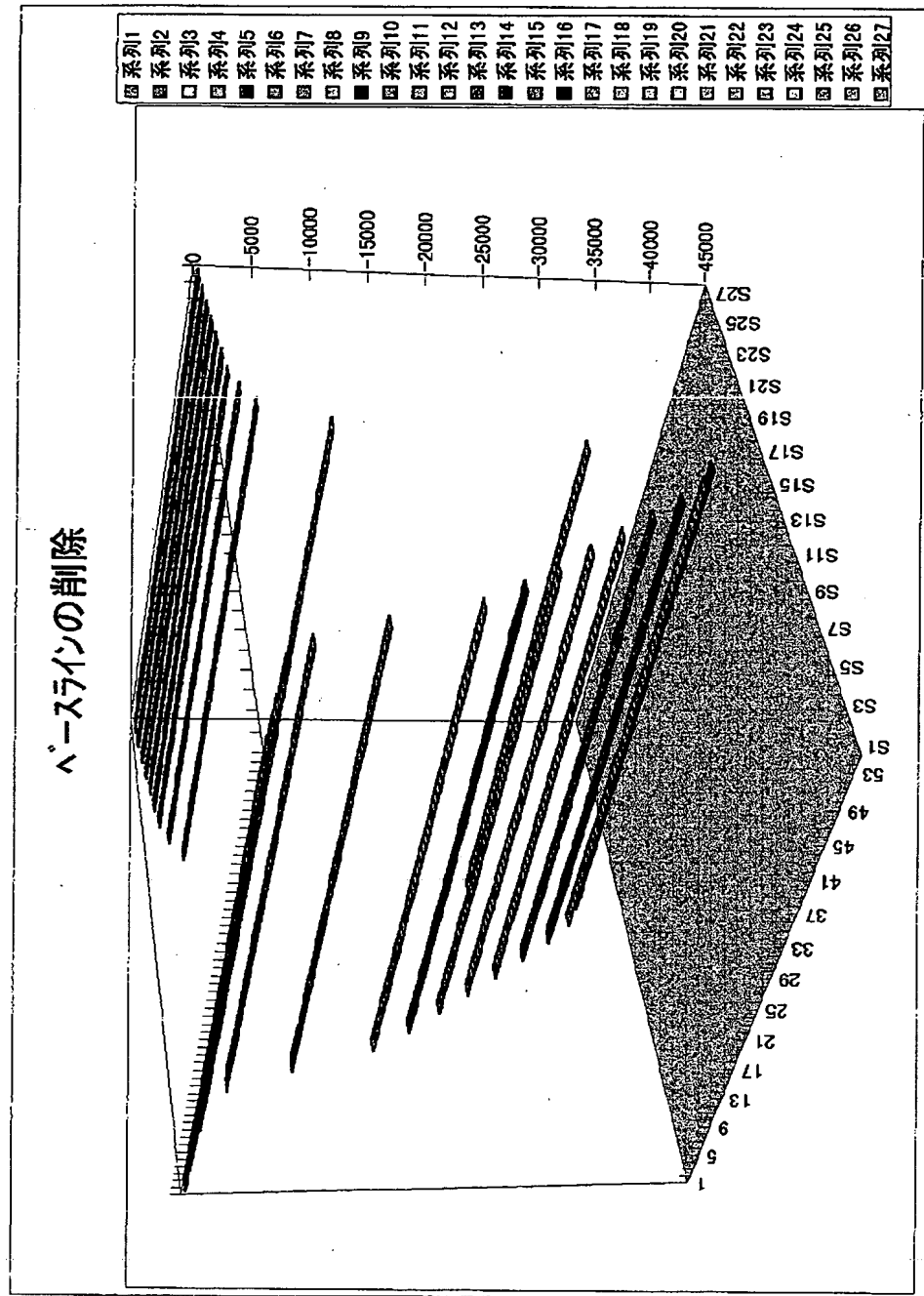
【図9】



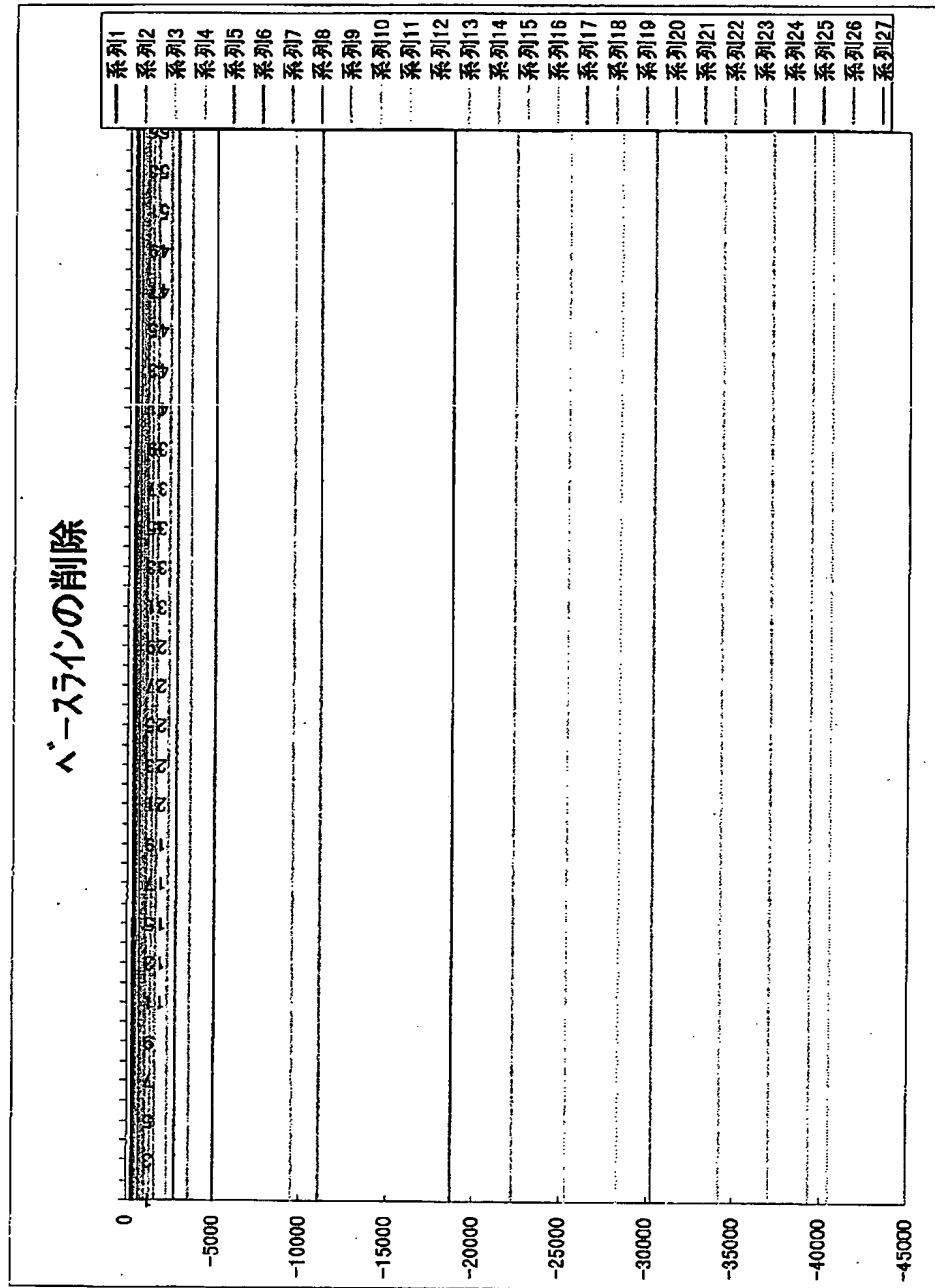
【図10】



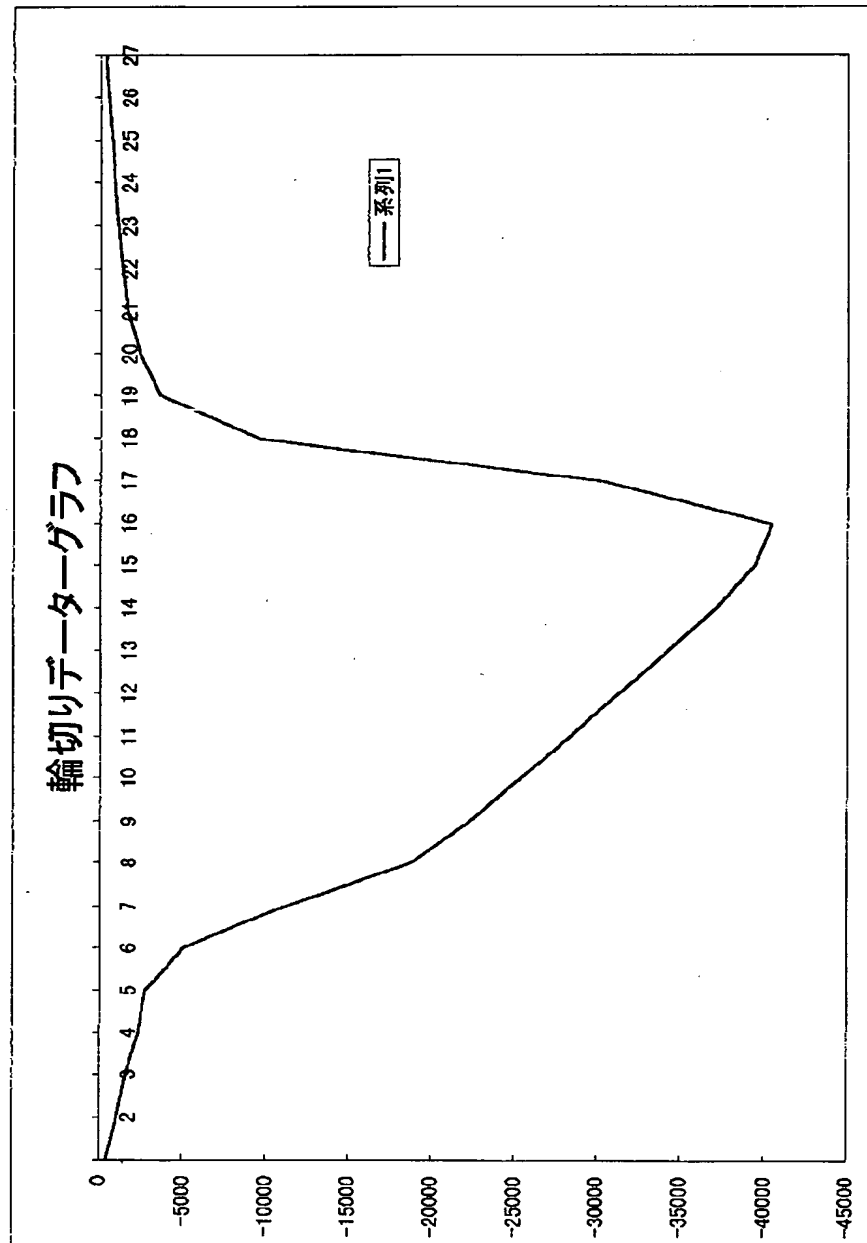
【図 1 1】



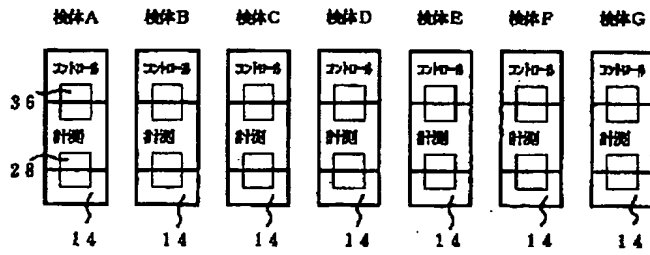
【図12】



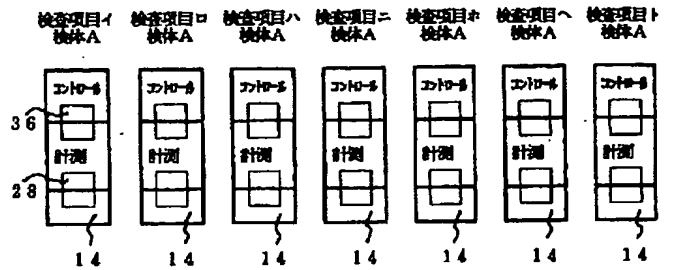
【図13】



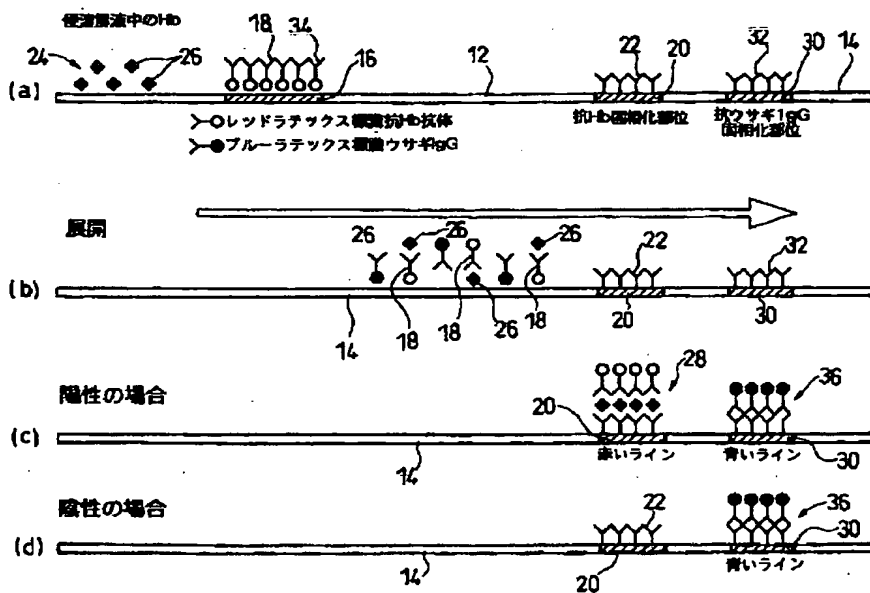
【図15】



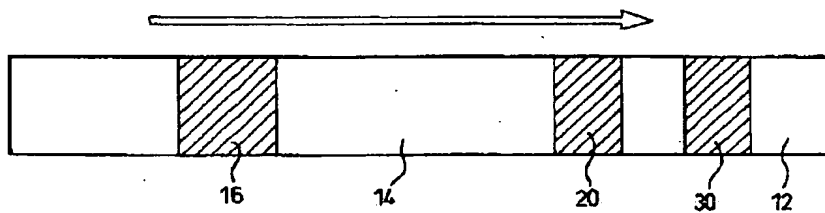
【図16】



【図17】



【図18】



フロントページの続き

(72)発明者 岡村 晴人
東京都千代田区岩本町1の10の6 三光純
薬株式会社内